

DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, NAUCA GAMONAL IVETH OFELIA , con DNI 75867755 en mi condición de autora de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico) presentada para optar el TITULO PROFESIONAL de FARMACIA Y BIOQUIMICA (grado o título profesional que corresponda) de título "EFECTO INHIBITORIO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA SEMILLA DE *Caesalpinia spinosa* (TARA) SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923", AUTORIZO a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

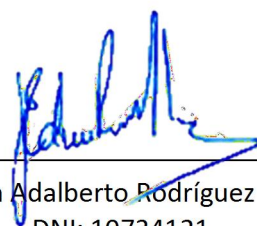
Asimismo, DECLARO BAJO JURAMENTO que dicho documento es ORIGINAL con un porcentaje de similitud de QUINCE POR CIENTO 15% y que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

Conforme a lo indicado firmo el presente documento dando conformidad a lo expuesto.

Lima, 21 de diciembre del 2022.



Iveth Ofelia Nauca Gamonal
DNI: 75867755



Dr. José Edwin Adalberto Rodríguez Lichtenheldt
DNI: 10734121

1. Apellidos y Nombres
2. DNI
3. Grado o título profesional
4. Título del trabajo de Investigación
5. Porcentaje de similitud

DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, TORRES ZARATE MIRIAM ELDA , con DNI 47653146 en mi condición de autora de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico) presentada para optar el TITULO PROFESIONAL de FARMACIA Y BIOQUIMICA (grado o título profesional que corresponda) de título "EFECTO INHIBITORIO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA SEMILLA DE *Caesalpinia spinosa* (TARA) SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923", AUTORIZO a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

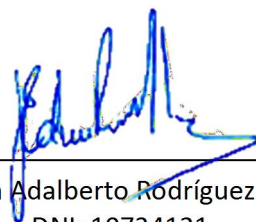
Asimismo, DECLARO BAJO JURAMENTO que dicho documento es ORIGINAL con un porcentaje de similitud de QUINCE POR CIENTO 15% y que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

Conforme a lo indicado firmo el presente documento dando conformidad a lo expuesto.

Lima, 21 de diciembre del 2022.



Miriam Elda Torres Zarate
DNI: 47653146



Dr. José Edwin Adalberto Rodríguez Lichtenheldt
DNI: 10734121

1. Apellidos y Nombres
2. DNI
3. Grado o título profesional
4. Título del trabajo de Investigación
5. Porcentaje de similitud

TESIS EFECTO INHIBITORIO IN VITRO

INFORME DE ORIGINALIDAD

15% INDICE DE SIMILITUD	15% FUENTES DE INTERNET	3% PUBLICACIONES	3% TRABAJOS DEL ESTUDIANTE
-----------------------------------	-----------------------------------	----------------------------	--------------------------------------

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.uroosevelt.edu.pe Fuente de Internet	8%
2	hdl.handle.net Fuente de Internet	3%
3	revistas.ucv.edu.pe Fuente de Internet	2%
4	repositorio.uma.edu.pe Fuente de Internet	1%
5	repositorio.upao.edu.pe Fuente de Internet	1%

Excluir citas Activo

Excluir bibliografía Activo

Excluir coincidencias < 1%



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**EFFECTO INHIBITORIO IN VITRO DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DE LA SEMILLA DE *Caesalpinia spinosa*
(TARA) SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

AUTORES

Bach. NAUCA GAMONAL, IVETH OFELIA

<https://orcid.org/0000-0001-8644-6596>

Bach. TORRES ZARATE, MIRIAM ELDA

<https://orcid.org/0000-0001-8584-2474>

ASESOR

Dr. RODRIGUEZ LICHTENHELDT, JOSÉ EDWIN

<https://orcid.org/0000-0003-1876-6496>

LIMA - PERÚ

2022

DEDICATORIA

A Dios por ser mi guía y ayudarme en todo el camino de esta travesía. A mis padres Norvil y Sedina, que con tanto amor se esforzaron y me ayudaron a llegar hasta este momento tan importante de mi formación profesional .

IVETH OFELIA NAUCA GAMONAL

Este trabajo está dedicado a mis padres Armando y Elvira, que con mucho amor, paciencia y esfuerzo me permitieron hoy cumplir otro sueño, gracias por inculcarme un ejemplo de esfuerzo y valentía ante las adversidades, teniendo presente a Dios en todo momento .

MIRIAM ELDA TORRES ZARATE

AGRADECIMIENTO

A nuestro asesor de tesis el Dr. José Edwin Rodríguez Lichtenheldt, quien con su experiencia y conocimientos nos orientó durante el desarrollo del presente trabajo de investigación.

A todas las personas que estuvieron involucradas de una y otra manera apoyándonos.

Las autoras

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA	3
AGRADECIMIENTO	4
ÍNDICE GENERAL	5
RESUMEN	9
ABSTRACT	10
I. INTRODUCCIÓN	11
II. MATERIALES Y MÉTODOS	17
II.1. Enfoque y diseño de la investigación	17
II.2. Población, muestra y muestreo	17
II.3. Variables de investigación	18
II.4. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos	18
II.5. Plan metodológico para la recolección de datos	18
II.6. Procesamiento del análisis estadístico	21
II.7. Aspectos éticos	21
III. RESULTADOS	22
IV. DISCUSIÓN	28
4.1. Discusión de Resultados	28
4.2. Conclusiones	30
4.3. Recomendaciones	31
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32
ANEXOS	35

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las semillas de *Caesalpinia spinosa* "Tara"

20

Tabla 2. Estadística descriptiva para los grupos experimentales y control

22

Tabla 3. Estadística descriptiva para los grupos control

22

Tabla 4. Prueba de distribución normal para cada grupo de tratamientos

24

Tabla 5. Prueba de homogeneidad de varianzas (Levene)

24

Tabla 6. Análisis de la varianza (ANOVA)

25

Tabla 7. Análisis por sub grupos homogéneos mediante la prueba de Tukey

25

Tabla 8. Sensibilidad antibacteriana según la escala de Duraffourd

26

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Recolección del fruto de la Tara	40
Figura 2. Lavado y desinfección de la muestra	40
Figura 3. Secado y selección de la tara	41
Figura 4. Extracción de las semillas de tara	41
Figura: 5. Secado en estufa de las semillas	42
Figura 6. Pulverizado y tamizado de las semillas de tara	43
Figura 7. Maceración de las semillas de Tara	44
Figura 8. Estudio fitoquímico	44
Figura 9. Preparación del extracto	45
Figura 10. Reactivación de <i>Staphylococcus aureus</i>	46
Figura 11. Preparación del cultivo bacteriano	47
Figura 12. Preparación de los pozos y aplicación del extracto en placa	48
Figura: 13. Incubación de placas y lectura de halos de inhibición	49

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Instrumento de recolección de datos

34

Anexo 2. Matriz de consistencia

35

Anexo 3. Operacionalización de las variables

36

Anexo 4. Certificado de identificación botánica

37

Anexo 5. Certificado de la cepa microbiológica

38

Anexo 6. Evidencias fotográficas del estudio

40

RESUMEN

Objetivo: Demostrar el efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de la semilla de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Método: La investigación presenta un enfoque cuantitativo basado en las variables en estudio, además es prospectivo y de corte transversal, con diseño experimental que busca determinar la causalidad de las variables, la población estuvo constituida por especie vegetal *Caesalpinia spinosa* (Tara) obtenida en el caserío Tambillo, del distrito de Chancay Baños de la provincia de Santa Cruz, departamento de Cajamarca, de la cual se trabajó con 4 kilogramos de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara) de la cual se extrajeron 1350 gramos de semillas como muestra, el extracto de las semillas se obtuvo por medio de maceración con etanol, el efecto inhibitorio del extracto se demostró mediante la técnica de difusión en pozo, posteriormente se empleó estadística inferencial para demostrar la hipótesis del estudio con un nivel de confianza del 95%.

Resultados: Los metabolitos secundarios encontrados fueron flavonoides, taninos y alcaloides; se obtuvieron halos de inhibición de $13,47 \pm 0,38$ mm para el extracto etanólico de tara al 50%, de $15,09 \pm 0,39$ mm para el extracto etanólico de tara al 75% y de $15,42 \pm 0,29$ mm para el extracto etanólico de las semillas de tara al 100%; el ciprofloxacino presentó halo de inhibición de $25,75 \pm 0,46$ mm y el etanol de $6,23 \pm 0,27$ mm. Se observó diferencias significativas entre los extractos y el ciprofloxacino mediante el análisis estadístico, siendo mayor el efecto inhibitorio en el ciprofloxacino.

Conclusión: Se logró demostrar el efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de la semilla de *Caesalpinia spinosa* (Tara) a las concentraciones del 50%, 75% y 100% sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Palabras clave: *Caesalpinia spinosa*, *Staphylococcus aureus*, efecto inhibitorio, extracto etanólico.

ABSTRACT

Objective: To demonstrate the in vitro inhibitory effect of the ethanolic extract of the *Caesalpinia spinosa* (Tara) seed on *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Method: The research presents a quantitative approach based on the variables under study, it is also prospective and cross-sectional, with an experimental design that seeks to determine the causality of the variables, the population consisted of the plant species *Caesalpinia spinosa* (Tara) obtained in the Tambillo farmhouse, in the district of Chancay Baños in the province of Santa Cruz, department of Cajamarca, of which we worked with 4 kilograms of pods of *Caesalpinia spinosa* (Tara) from which 1350 grams of seeds were extracted as a sample, the extract of the seeds were obtained by maceration with ethanol, the inhibitory effect of the extract was demonstrated by the well diffusion technique, later inferential statistics were used to demonstrate the hypothesis of the study with a confidence level of 95%.

Results: The secondary metabolites found were flavonoids, tannins and alkaloids; Inhibition halos of 13.47 ± 0.38 mm were obtained for the ethanolic extract of 50% tara, 15.09 ± 0.39 mm for the ethanolic extract of 75% tara and 15.42 ± 0.29 mm for the 100% ethanolic extract of tara seeds; ciprofloxacin presented an inhibition zone of 25.75 ± 0.46 mm; and ethanol of 6.23 ± 0.27 mm, significant differences were observed between the extracts and ciprofloxacin by means of statistical analysis, the inhibitory effect being greater in ciprofloxacin.

Conclusion: It was possible to demonstrate the inhibitory effect in vitro of the ethanolic extract of the seed of *Caesalpinia spinosa* (Tara) at concentrations of 50%, 75% and 100% on *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Keywords: *Caesalpinia spinosa*, *Staphylococcus aureus*, inhibitory effect, ethanolic extract.

I. INTRODUCCIÓN

La resistencia bacteriana es una facultad de las bacterias donde logran multiplicarse en concentraciones terapéuticas de fármacos que son en su mayoría inhibidores de la misma especie o iguales a la concentración máxima alcanzable durante el uso terapéutico. El aumento de bacterias resistentes genera un problema de salud pública creciente que se relaciona estrechamente con el uso incorrecto de los antibióticos. Aunque los antimicrobianos se encuentran entre los agentes más utilizados en la medicina moderna, aproximadamente el 50 % de los antimicrobianos recetados se consideran innecesarios. Este uso excesivo respondería como uno de los factores que generan la resistencia a los antimicrobianos^{1,2}.

Staphylococcus aureus, es una bacteria anaerobia facultativa, según investigaciones declaradas por la Organización Mundial de la salud (OMS-2017) se encuentra como un microorganismo multirresistente de prioridad elevada, originado infecciones desde no graves hasta infecciones que comprometen la vida del paciente. Además, la OMS, reconoció a *Staphylococcus aureus* como una super bacteria que arrasa los 700 mil fallecidos en todo el planeta y realizó un cálculo donde fácilmente en el año 2050 *Staphylococcus aureus* podría ser la primera causa de muerte en la población³.

Por otro lado, en un Hospital de Cuba, se informó que había una cifra alta de contagios por un determinado patógeno, razón por la cual se hicieron aislamientos encontrándose que *Staphylococcus aureus* viene siendo resistente por tres años consecutivos, con cifras que superan el 70%, otro informe también relató que el hospital Cienfuegos de Cuba presentó un 52.2% de aislamientos pertenecientes a la misma cepa resistente, añadiendo que estas cepas afectan más a los pacientes hospitalizados que se encuentran en la unidad de cuidados intensivos⁴.

A nivel nacional, se reportó que en la Universidad de Ricardo Palma de Lima se tomaron muestras a los alumnos sanos portadores de *Staphylococcus aureus*, donde más del 80% fueron resistentes a los betalactámicos y sólo el 10% fueron sensibles a algunos antibióticos. Por su parte, el hospital Cayetano Heredia informó que el 46% de aislamientos corresponden a *Staphylococcus aureus*

resistente a la meticilina (MRSA) y el 2.6% corresponde a cepas de MRSA adquiridas en la comunidad^{5,6}.

Por esta razón, el propósito de la presente investigación será demostrar el efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (TARA) sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 .

Dentro del marco teórico definiremos las siguientes variables: La "tara" de nombre científico *Caesalpinia spinosa* pertenece a la familia *Fabaceae*, su fruto es una vaina y de acuerdo a sus bordes adopta la forma oblonga, sutilmente falcada; su fruto maduro o seco tiene una apariencia globosa en cada semilla o aplanada, antes de que alcance su madurez la vaina presenta pelos glandulares, su coloración varía en tonos rojos, anaranjado rojizo y crema; sus semillas maduras o secas tienen formas ovaladas o romboides de coloración marrón o

gris. Las semillas de la tara se muelen y se exportan para extraer el ácido tánico, componente muy utilizado en la industria farmacéutica, también es usado como una goma espesante en la industria alimentaria⁷.

El género *Staphylococcus* son bacterias de forma esférica grampositivas que se encuentran microscópicamente formando racimos parecidos al de las uvas. En la toma de muestras provenientes de la nariz y la piel de humanos normales siempre está presente el género *Staphylococcus*. En 1884, Rosenbach describió los dos tipos de colonias pigmentadas pertenecientes a *Staphylococcus* y propuso la nomenclatura adecuada: *Staphylococcus aureus* (colonias amarillas) y *Staphylococcus albus* (colonias blancas)⁸.

Los estafilococos tienen una propensión a desarrollar resistencia a los antibióticos con relativa rapidez. La mayoría de los estafilococos ya no son susceptibles a los efectos de las penicilinas solas, porque las bacterias producen enzimas o penicilinasas que inactivan a muchos de esos fármacos⁹.

Dentro de los antecedentes internacionales mencionaremos a León M. et al (2021), quienes publicaron el artículo “Actividad antifúngica de compuestos fenólicos de tara (*Caesalpinia spinosa*) frente a *Fusarium graminearum*” con el objeto de determinar in vitro la actividad antifúngica de los compuestos fenólicos de la tara frente a *F. graminearum*. Los resultados indicaron que se inhibió el crecimiento de *F. graminearum* en un 30 a 70%, por lo tanto, se afirma que el extracto de tara presenta actividad antifúngica frente a *F. graminearum*¹⁰.

También, Bornaz V. y Bornaz J. (2018), en su estudio determinaron el efecto inhibitorio de la *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre la cepa *Enterococcus Faecalis*. Para comprobar el efecto inhibitorio aplicaron la técnica microbiológica de difusión en disco, donde las placas inoculadas con el extracto fueron incubadas en un medio de anaerobiosis posteriormente, después de 24 horas se midió el tamaño de los halos. Los datos obtenidos indicaron que el halo de inhibición formado por *Caesalpinia spinosa* fue de mayor tamaño comparado con el Hipoclorito de Sodio; también se aplicó un Test de Normalidad donde indica que los datos obtenidos presentan diferencia significativa entre ellos a nivel estadístico. Se concluyó que la *Caesalpinia spinosa* presenta efecto antibacteriano frente al *Enterococcus Faecalis* superior al Hipoclorito de

Sodio¹¹.

Haro A. (2016), realizaron un estudio en laboratorio, de nombre “La eficacia antibacteriana entre el extracto alcohólico de Tara 100% e hipoclorito de sodio 5,25% sobre la cepa *Enterococcus Faecalis*”. Las medidas del diámetro de los halos demostraron que el concentrado de tara y la solución de hipoclorito de sodio detienen el crecimiento bacteriano de la cepa *Enterococcus Faecalis* y el extracto de tara a una concentración del 100% presenta un efecto antibacteriano mayor y constante en comparación del hipoclorito de sodio al 5,25%¹².

A nivel nacional citaremos a Delgado E. et al (2021) en su investigación “Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (TARA) frente a *Streptococcus mutans*” con el fin de demostrar su efecto contra dicha bacteria. En los resultados el extracto de tara a una concentración del 50% formó un halo promedio de 23.97mm, al 75% un halo de 24.74mm y al 100% un halo de 26.2mm, demostrando su efecto en todas las concentraciones trabajadas frente a *Streptococcus mutans*¹³.

León F. et al (2019), ellos evaluaron en el laboratorio el estudio de nombre “Efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* tara frente a cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027” y compararon su efecto con la ceftazidima. Los resultados del estudio microbiológico afirmaron el efecto antibacteriano de los extractos de tara en diferentes concentraciones, asimismo, el efecto es mayor si la concentración del extracto aumenta, razón por la cual el extracto al 100% formó un halo de 28mm, no obstante, fue menor que la ceftazidima que alcanzó un halo de 42mm¹⁴.

Cano D. et al (2017), en su publicación “Efecto inhibitorio de la infusión y aceite esencial de *Caesalpinia spinosa* (TARA) sobre las cepas de *Streptococcus mutans* Puno-2017”. Definieron como objetivo determinar el efecto inhibitorio in vitro de la infusión y esencia aromática de “*Caesalpinia spinosa* (TARA)” sobre *Streptococcus mutans*. Los resultados de la infusión de tara mostraron efecto inhibitorio contra *Streptococcus mutans* en las concentraciones de 50, 75 y 100% con halos de 14.20mm, 16.57mm y 17.11mm a las 24 horas y el aceite de tara mostró halos de hasta 18.09mm, concluyendo que tanto la infusión como el aceite presentan efecto inhibitorio¹⁵.

El objetivo principal que se plantea para el estudio en referencia es demostrar el efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de la semilla de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Como hipótesis general para este estudio, se plantea: El extracto etanólico de la semilla de *Caesalpinia spinosa* (Tara) presenta efecto inhibitorio sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

II.1. Enfoque y diseño de la investigación

El enfoque es cuantitativo, de acuerdo a las variables numéricas de estudio; prospectivo y transversal porque la obtención de datos se realizó en un tiempo futuro.

El diseño es experimental, en la medida que las variables fueron modificadas o manipuladas para determinar su relación de causalidad deliberadamente.

II.2. Población, muestra y muestreo

La población para este estudio comprendió a 4 kilogramos de la especie vegetal de nombre *Caesalpinia spinosa* (Tara) la cuál fue obtenida en el caserío Tambillo, del distrito de Chancay Baños de la provincia de Santa Cruz, departamento de Cajamarca.

Se seleccionó de la población total de *Caesalpinia spinosa* (Tara) las semillas, las cuales luego de cumplir los criterios de inclusión y exclusión se obtuvieron un total de muestra de 1350 gr de semillas, en la obtención de la muestra se consideraron los siguientes criterios.

Criterios de inclusión: Las vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara) se recolectaron directamente de la planta, presentaron similar forma y tamaño, sin signos aparente de contaminación por plagas.

Criterios de exclusión: Corresponder a una especie vegetal similar, ser de diferente ubicación geográfica, no haber sido identificada previamente.

El muestreo seleccionado en la investigación fue el no probabilístico, por conveniencia debido a la facilidad de acceso y disponibilidad del investigador para obtener la muestra de estudio¹⁶.

II.3. Variables de investigación

Variable independiente: Extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara).

Definición conceptual: Sustancia pastosa que contiene los metabolitos secundarios de *Caesalpinia spinosa* (Tara)¹⁷.

Definición operacional: Maceración en etanol de 96° del pulverizado de las semillas de *Caesalpinia spinosa* (Tara) por un tiempo determinado.

Variable dependiente: Efecto inhibitorio in vitro sobre *Staphylococcus aureus*.

Definición conceptual: Disminución en el crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus*¹⁸.

Definición operacional: Medida del diámetro del halo de inhibición.

II.4. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos

Técnicas:

Maceración: Proceso físico mediante el cual se facilita la extracción de los metabolitos secundarios de la planta al exponer la muestra vegetal con un solvente¹⁹.

Difusión en pozo: Modificación de la técnica de Kirby Bauer en disco, donde se coloca la solución a analizar en un pocito preparado en el agar en placas petri²⁰.

Instrumentos:

Ficha de recolección de datos: Registro que permite recolectar los datos obtenidos de la experimentación.

II.5. Plan metodológico para la recolección de datos

Identificación taxonómica de la muestra vegetal

Se recolectaron dos muestras que representan a la especie vegetal, las que fueron acondicionadas en cartulina, así mismo, se tomaron fotos de la planta y se enviaron al profesional botánico para su respectiva identificación y emisión del certificado de identificación botánica respectivo.

Recolección de la muestra vegetal

Se recolectaron aproximadamente 4 kilogramos de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara) extraídas directamente de la planta, luego fueron colocadas sobre papel kraft y preparadas para su traslado.

Preparación de la muestra

Los 4 kilogramos de población una vez en el laboratorio fueron llevadas al área de lavado y desinfección, para lo cual se trató con abundante agua del grifo y posteriormente fueron desinfectadas con hipoclorito de sodio a la concentración de 0.1 %, donde fueron colocadas por 3 minutos, luego nuevamente fueron lavadas con abundante agua, se colocaron posteriormente en una mesa a corriente de aire directa bajo sombra hasta su secado completo por 5 días, luego se extrajeron 1350 gr. de semillas de la población seleccionada.

Obtención de extracto etanólico

Los 1350 gr. de semillas de *Caesalpinia spinosa* (Tara) fueron colocadas en la tolva del molino de cuchillas para proceder a pulverizar las semillas de la planta, el pulverizado fue tamizado con un tamiz Nro. 18 y posteriormente el tamizado se colocó en un frasco ámbar y se agregó 800 ml de etanol de 96°, se mezcló bien hasta obtener una solución homogénea.

Luego de transcurridos los 10 días y con agitación constante por 5 minutos cada 12 horas se procedió a realizar el filtrado del macerado con papel de filtro Whatman Nro. 01, el filtrado obtenido se llevó a una estufa hasta evaporación completa por 12 horas hasta obtener el extracto seco en una cantidad total de 16,7 gramos²¹.

El rendimiento obtenido del extracto etanólico de las semillas de *Caesalpinia spinosa* (Tara) fue de 1,23%, el cual se calculó a partir de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de Rendimiento} = \frac{16,7}{1350} \times 100 \square 1,23 \%$$

Activación de la cepa *Staphylococcus aureus*

La cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 fue proporcionada por el laboratorio de microbiología Gen Lab. Perú, el cual proporcionó el certificado de análisis de la cepa.

La activación de la cepa se realizó en agar Baird Parker, mediante hisopados directos, luego de reconstituir el liofilizado de la cepa, se llevó a incubación a $37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ por un periodo de 24 a 48 horas.

Luego de transcurrido este tiempo se verificó la formación de las colonias formadas²².

Preparación del inóculo de trabajo

De las colonias formadas en el procedimiento anterior se retiraron dos a tres grupos de colonias de la placa formada y se colocaron en un tubo de 10mL de suero fisiológico, luego se comparó con el tubo de 0.5 del escalímetro de McFarland, hasta llegar a obtener la misma turbidez, por lo tanto, se realizaron diluciones sucesivas en suero fisiológico hasta obtener la concentración bacteriana similar a la estándar de McFarland, este último tubo se consideró el inóculo de trabajo.

Preparación de tratamientos

El inóculo conteniendo *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 fue sembrado en las placas Petri mediante la técnica de hisopado directo en 30 placas con agar Mueller-Hinton, luego se separaron en dos grupos de placas de 15 cada una, en el grupo 1 se prepararon 3 pocitos de un diámetro de 6mm y en el grupo 2, se prepararon 2 pocitos; en el grupo 1 se identificaron cada pozo con las concentraciones de trabajo de los extractos (100%, 75% y 50%), donde se colocarán 30uL de cada extracto respectivamente; en el grupo 2 se colocaron los controles negativo (etanol) y positivo (ciprofloxacino) en la misma cantidad, luego se llevaron todas las placas a incubación por 24 horas.

Recolección de datos

Luego de transcurrido este tiempo se retiraron las placas de la incubadora y se verificó la formación de los halos de inhibición formados, para posteriormente realizar la medición de los halos de inhibición mediante un vernier digital.

II.6. Procesamiento del análisis estadístico

Los datos recolectados de los diámetros de los halos de inhibición fueron recolectados en la ficha de recolección de datos y procesados mediante el software estadístico SPSS versión 26, con un nivel de confianza del 0.05 mediante el cual se obtuvieron los valores promedio de los halos de inhibición para cada grupo de trabajo y la estadística descriptiva de cada grupo, así mismo, se realizaron las pruebas de normalidad y homogeneidad de varianzas para posteriormente aplicar las pruebas de comparación de ANOVA y Tukey²³.

II.7. Aspectos éticos

El presente trabajo debido al tipo de estudio experimental in vitro no necesito de permisos especiales por parte del comité ético, sin embargo, por el manejo de cepas microbiológicas con capacidad infectiva se tomaron en cuenta las medidas de bioseguridad en el manejo de laboratorio de ensayo y el desecho de material biocontaminados y residuos sólidos producto de los ensayos experimentales.^{24,25}.

III. RESULTADOS

Tabla 1. Metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las semillas de *Caesalpinia spinosa* “Tara”

IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS		
Metabolitos Secundarios	Reactivos	Resultado
Quinonas	Borntrager	-
Compuestos fenólicos	FeCl ₃	-
Flavonoides	Shinoda	+
Taninos	FeCl ₃	+
Alcaloides	Dragendorff	+
Triterpenos / Esteroides	Liebermann Burchard	-
Aminoácidos	Ninhidrina	-
Saponinas	Espuma	-
Mucilagos		-

Tabla 1. Elaboración propia

Interpretación:

En la tabla 1 se muestran los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las semillas de *Caesalpinia spinosa* “Tara”, donde se puede observar la presencia de flavonoides, taninos y alcaloides, como metabolitos secundarios y carbohidratos como metabolitos primarios.

CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS:

H0: El extracto etanólico de la semilla de *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 100%, 75% Y 50% no presenta efecto inhibitorio in vitro sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

H1: El extracto etanólico de la semilla de *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 100%, 75% Y 50% presenta efecto inhibitorio in vitro sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Tabla 2. Análisis estadístico de los halos de inhibición de los grupos experimentales

Diámetro del halo de inhibición									
	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% Intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo	
					Límite Superior	Límite Inferior			
E. E. Tara - 100%	10	15,42		0,29	0,09	15,21	15,63	14,96	15,76
E. E. Tara - 75%	10	15,09		0,39	0,12	14,81	15,37	14,38	15,58
E. E. Tara - 50%	10	13,47		0,38	0,12	13,20	13,74	12,96	14,09

Tabla 2. Elaboración propia

Interpretación:

Se muestra en la tabla 2, los valores medio de halos de inhibición obtenidos sobre cultivos en placa de *Staphylococcus aureus*, donde se obtuvieron halos de $13,47 \pm 0,38$ mm para el extracto etanólico de tara al 50%, de $15,09 \pm 0,39$ mm para el extracto etanólico de tara al 75% y de $15,42 \pm 0,29$ mm para el extracto etanólico de las semillas de tara al 100%, así mismo se muestra la estadística descriptiva de cada grupo de datos.

Tabla 3. Análisis estadístico de los halos de inhibición de los grupos control

Diámetro del halo de inhibición									
	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% Intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo	
					Límite Superior	Límite Inferior			
Control negativo (etanol)	10	6,23		0,27	0,09	6,03	6,43	5,94	6,69
Control Positivo (ciprofloxacino)	10	25,75		0,46	0,15	25,42	26,08	25,06	26,42

Tabla 3. Elaboración propia

Interpretación:

En la tabla 3, encontramos los valores promedio de 10 mediciones correspondientes a los tamaños de los halos de inhibición con respecto a los grupos control, correspondiendo al ciprofloxacino un halo de inhibición de $25,75 \pm 0,46$ mm; así mismo, se observa el valor promedio del control negativo que fue de $6,23 \pm 0,27$ mm además de sus parámetros estadísticos de desviación estándar, límites superior e inferior, etc.

Figura 1. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de las semillas de *Caesalpinia spinosa* "Tara" al 50%, 75%, 100%, ciprofloxacino y etanol frente a *Staphylococcus aureus*.

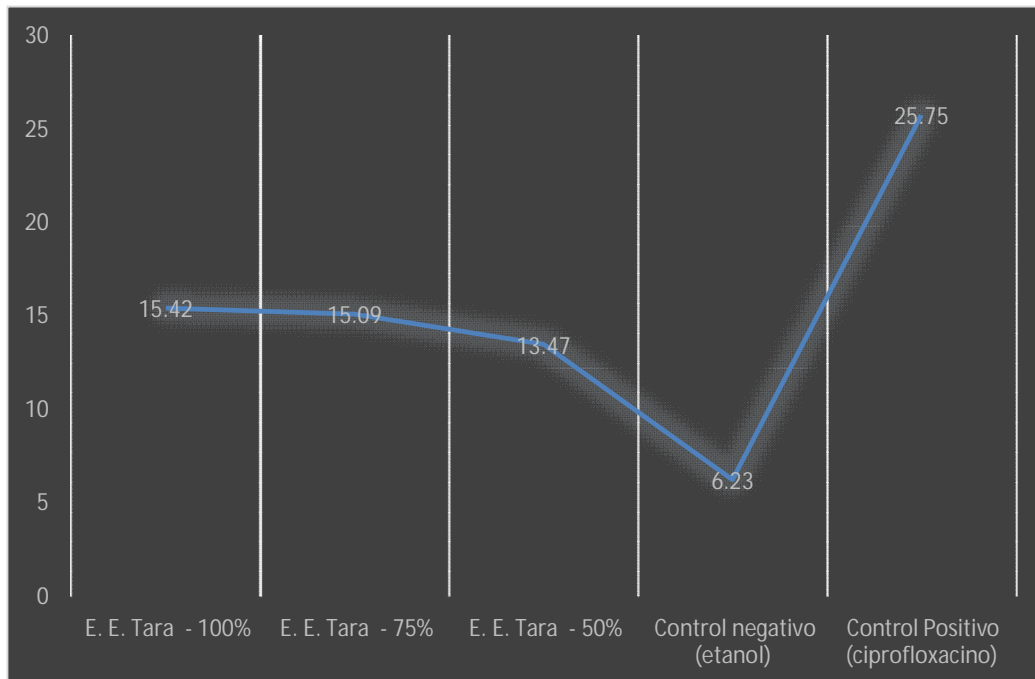


Figura 1. Elaboración propia

Del mismo modo, en la figura 1, se muestra de manera comparativa los promedios de los halos de inhibición obtenidos por cada grupo, tanto experimental como control; se observa una tendencia creciente en relación al efecto antibacteriano y la concentración del extracto etanólico de las semillas de tara, los valores de los extractos superiores al grupo control negativo (6,23mm) demuestran el efecto antibacteriano; así mismo, el grupo control positivo representado por el ciprofloxacino muestra un halo de inhibición superior a todos los demás grupos con 25,75 mm.

Análisis:

De los resultados encontrados en las tablas 2 y 3; así como, la figura 1 se observa que existe efecto antibacteriano frente a *Staphylococcus aureus* por parte del extracto etanólico de las semillas de *Caesalpinia spinosa* "Tara" al 100%, 75% y 50% al comparar los tamaños de los halos de inhibición formados con el grupo control negativo.

Conclusión:

Rechazar la H0 y aceptar la H1, que establece que el extracto etanólico de la semilla de *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 100%, 75% Y 50% presenta efecto inhibitorio in vitro sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Tabla 4. Análisis de la normalidad de los grupos de datos

Grupos de trabajo	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	df	Sig.
Diámetro del halo de inhibición (mm) E. E. Tara - 100%	0,926	10	0,410
E. E. Tara - 75%	0,952	10	0,696
E. E. Tara - 50%	0,910	10	0,281
Control negativo (etanol)	0,892	10	0,179
Control Positivo (ciprofloxacino)	0,957	10	0,749

Fuente: SPSS ver. 26

Interpretación:

Se muestra el análisis realizado mediante el software estadístico SPSS ver. 26 para la determinación de la distribución normal de cada grupo de datos trabajados, de las dos pruebas aplicadas se observa que todos los grupos cumplen con una distribución normal luego de comparar sus valores de significancia con el valor alfa de significancia del estudio (0,05).

Tabla 5. Análisis de la homogeneidad de varianzas (Levene)

	Estadístico de Levene	df1	df2	p-
				valor
Basado en la media	0,661	4	45	0,622
Diámetro del halo de inhibición de df Basado en la mediana	0,522	4	45	0,720
Basado en la mediana con ajuste	0,522	435,271		0,720
Basado en la media recortada	0,648	4	45	0,631

Fuente: SPSS ver. 26

Interpretación:

Mediante la prueba de Levene o de homogeneidad de varianzas mostrada en la tabla Nro. 05 se determinó mediante el análisis realizado que el p-valor obtenido en la tabla basado en la media supera al valor de significancia del estudio (0.05) lo que demuestra que los grupos analizados presentan varianzas homogéneas.

CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS:

H₀: El extracto etanólico de la semilla de *Caesalpinia spinosa* no presenta mayor efecto inhibitorio in vitro sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 que el ciprofloxacino.

H₁: El extracto etanólico de la semilla de *Caesalpinia spinosa* presenta mayor efecto inhibitorio in vitro sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 que el ciprofloxacino.

Tabla 6. Análisis de los valores promedio de los grupos mediante la prueba de ANOVA

Diámetro del halo de inhibición

	Suma de cuadrados	df	Media al cuadrado	F	p-valor.
Entre grupos	1948,440	4	487,1103640,003		0,000
Dentro de los grupos	6,022	45	0,134		
Total	1954,462	49			

Fuente: SPSS ver. 26

Interpretación:

En la tabla 6, mediante la prueba de ANOVA se observó diferencias estadísticamente significativas con respecto al tamaño del halo inhibición promedio de los grupos analizados, mediante la comparación del p-valor (0,00) inferior al valor alfa de 0,05 aceptando la hipótesis alterna, lo que demuestra que los grupos analizados presentan diferentes halos de inhibición.

Tabla 7. Análisis por sub grupos homogéneos mediante la prueba de Tukey

Diámetro de inhibición

HSD Tukey ^a		Subconjunto para alfa = 0.05			
Grupos de trabajo	N	1	2	3	4
Control negativo (etanol)	10	6,23			
E. E. Tara - 50%	10		13,474		
E. E. Tara - 75%	10			15,09	
E. E. Tara - 100%	10			15,41	
Control Positivo (ciprofloxacino)	10				25,75
Sig.		1,000	1,000	0,280	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 10,000.

Fuente: SPSS ver. 26

Interpretación:

La prueba por sub-grupos homogéneos de Tukey mostrada en la tabla 7, permite realizar una comparación del efecto antibacteriano, mediante el análisis de los halos

de inhibición promedio formados por cada grupo, en esta prueba se puede comparar los valores representados en columnas, correspondiendo el mayor efecto antibacteriano a la columna de mayor valor, siendo el efecto antibacteriano del ciprofloxacino mayor al de los extractos etanólicos de tara.

Análisis:

La evaluación de los resultados encontrados con respecto al tamaño de los halos de inhibición formados por los extractos etanólicos de la semilla de *Caesalpinia spinosa* a las concentraciones de 100%, 75% y 50% presentan menor efecto inhibitorio que el ciprofloxacino.

Conclusión:

Se rechaza la hipótesis H_1 y se acepta la H_0 que confirma que el extracto etanólico de la semilla de *Caesalpinia spinosa* no presenta mayor efecto inhibitorio in vitro sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 que el ciprofloxacino.

Tabla 8. Evaluación de la sensibilidad antibacteriana mediante la escala de Duraffourd

Tratamiento	Sensibilidad nula < 8 mm	Sensible 8–14 mm	Muy sensible 14-20 mm	Altamente sensible > 20 mm
Control negativo (etanol)	6,23			
E. E. Tara - 50%		13,47		
E. E. Tara - 75%			15,09	
E. E. Tara - 100%			15,41	
Control Positivo (ciprofloxacino)				25,75

Tabla 9. Elaboración propia

Interpretación:

En la tabla 8, se representan los halos promedios obtenidos por los grupos de tratamiento y control mediante la escala de Duraffourd, donde se puede apreciar que *Staphylococcus aureus* presenta Sensibilidad Nula al grupo control negativo, es sensible al extracto etanólico de tara al 50%, es Muy sensible al extracto al 75% y 100%; y es altamente sensible al control positivo (ciprofloxacino).

IV. DISCUSIÓN

4.1. Discusión de Resultados

El efecto inhibitorio in vitro se ha estudiado en diferentes investigaciones realizadas en plantas medicinales con el objetivo de determinar la acción de estas sobre diferentes bacterias u hongos, debido a la amenaza que estos representan en la salud de la población, en tal sentido, en el presente trabajo de investigación muestra los resultados obtenidos del estudio in vitro relacionado con el extracto etanólico de las semillas de tara (*Caesalpinia spinosa*) frente a *Staphylococcus aureus*.

Los metabolitos secundarios de *Caesalpinia spinosa* “Tara” presentan diferentes propiedades entre ellas la antimicrobiana como las diferentes referencias de estudios, en el estudio fitoquímico realizado al extracto etanólico de las semillas de tara (*Caesalpinia spinosa*) se encontró la presencia de ciertos metabolitos como flavonoides, taninos, alcaloides con potencial actividad antimicrobiana.

Con respecto al efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de la semilla de *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 50% sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 se obtuvieron halos de $13,47 \pm 0,38$ mm, de $15,09 \pm 0,39$ mm para el extracto etanólico de tara al 75% y de $15,42 \pm 0,29$ mm para el extracto etanólico de tara al 100%.

El estudio realizado por Delgado E. et al (2021) demostró “el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) frente a *Streptococcus mutans*”, obteniendo por el método de difusión en pozo halos de inhibición para la concentración del 50% de 23.97mm, al 75% un halo de 24.74mm y al 100% un halo de 26.2mm, los resultados encontrados en este estudio son mayores a los encontrados frente a *Staphylococcus aureus*, a las mismas concentraciones de trabajo, lo que supone una mayor actividad del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) frente a *Streptococcus mutans*, así mismo, se remarca la diferencia que los extractos obtenidos fueron realizados de distintas partes de la planta (semillas y hojas), lo que puede influir en la concentración de los metabolitos encontrados y su influencia en la actividad antibacteriana que

presentan.

Un estudio similar fue el realizado por Cano D. et al (2017), donde trabajo con la infusión y el aceite esencial de *Caesalpinia spinosa* (tara) a las concentraciones 50%, 75% y 100% obteniendo halos de 14.20mm, 16.57mm y 17.11mm para la infusión de tara y con halo promedio de 18.09mm para el aceite esencial, lo que demuestra que la parte de la planta y el tipo de extracción modifica la actividad antimicrobiana de la tara.

También la actividad de esta planta fue demostrada frente a otros microorganismos como *Enterococcus Faecalis*, lo que fue demostrado por Bornaz V. y Bornaz J. (2018), mediante el método de difusión en disco, incluso demostrando mayor actividad frente al hipoclorito de sodio comparado como grupo control, lo que fue demostrado de igual manera con concentraciones de extracto etanólico de tara al 100% frente a hipoclorito de sodio al 5,25% por Haro A. (2016).

Por otro lado, la actividad antifúngica también fue demostrada por León M. et al (2021) mediante su investigación logró demostrar que los compuestos fenólicos obtenidos del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* inhibieron el crecimiento de *F. graminearum* en un 30 a 70%, presentando actividad antifúngica contra este hongo.

Como se puede observar la presente investigación complementa los estudios de otros investigadores ya que no existen antecedentes de la acción antibacteriana sobre la bacteriana en estudio, así mismos, todos los estudios confirman el gran potencial antimicrobiano que presenta la tara en todas las partes de la planta y mediante diferentes formas de extracción de sus metabolitos lo que abre las puertas a nuevos estudios.

Por otro lado, el efecto antibacteriano de la tara fue comparado con un antibiótico del mercado, al demostrar el efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de la semilla de *Caesalpinia spinosa* (Tara) con Ciprofloxacino sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, mediante las pruebas estadísticas de contrastación como ANOVA y Tukey se logró determinar que existe evidencia estadísticamente significativa de la presencia de efecto inhibitorio del extracto etanólico de la semilla de *Caesalpinia spinosa* (Tara)

sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, pero con menor poder antibacteriano que el ciprofloxacino.

Así mismo, se evaluó la sensibilidad antibacteriana de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mediante la escala de valoración de Duraffourd mostrando que esta bacteria presenta sensibilidad nula al etanol (control negativo), es sensible al extracto etanólico de la semilla de tara a la concentración del 50%, es muy sensible a los extractos a las concentraciones de 75% y 100% y es altamente sensible al ciprofloxacino.

4.2. Conclusiones

- Se identificó en el extracto etanólico de las semillas de *Caesalpinia spinosa* "Tara" los metabolitos secundarios siguientes flavonoides, taninos y alcaloides.
- El extracto etanólico de la semilla de *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 100% presentó efecto inhibitorio in vitro sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 con formación de halo de inhibición de $15,42 \pm 0,29$ mm.
- El extracto etanólico de la semilla de *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 75% presentó efecto inhibitorio in vitro sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 con formación de halo de inhibición de $15,09 \pm 0,39$ mm.
- El extracto etanólico de la semilla de *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 50% presentó efecto inhibitorio in vitro sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 con formación de halo de inhibición de $13,47 \pm 0,38$ mm.
- El efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de la semilla de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 resultó ser menor que el del Ciprofloxacino.

4.3. Recomendaciones

- Evaluar por separado los metabolitos encontrados en los extractos y aceite de tara para determinar cuál de estos presenta mayor efecto inhibitorio sobre *Staphylococcus aureus*.
- Realizar estudios de diferentes partes de la planta y evaluar su acción frente a diferentes microorganismos.
- Promover los estudios experimentales en animales sobre plantas medicinales para demostrar sus efectos in vivo, así mismo, evaluar la toxicidad de estas.
- Respalda las investigaciones a nivel de las universidades, mediante el apoyo económico, con el objetivo de motivar los estudios experimentales in vitro e in vivo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. El-Tarabily K, El-Saadony M, Alagawany M, Arif M, Batiha G, Khafaga A, et al. Using essential oils to overcome bacterial biofilm formation and their antimicrobial resistance. *Saudi Journal of Biological Sciences* [Internet]. 2021 Sep 1;28(9):5145–56. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319562X21004010>
2. Blake KS, Choi JH, Dantas G. Approaches for characterizing and tracking hospital-associated multidrug-resistant bacteria. *Cellular and Molecular Life Sciences* 2021 78:6 [Internet]. 2021 Feb 13 [cited 2022 May 19];78(6):2585–606. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00018-020-03717-2>
3. Lade H, Kim J. Bacterial Targets of Antibiotics in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Antibiotics* 2021, Vol 10, Page 398 [Internet]. 2021 Apr 7 [cited 2022 May 19];10(4):398. Available from: <https://www.mdpi.com/2079-6382/10/4/398/htm>
4. Madruga M, Cepero M. Microbiological surveillance of bacterial resistant in methicillin resistant *Staphylococcus* spp. General Calixto García University Hospital. 2015-2017. *Panorama Cuba y Salud* [Internet]. 2019 [cited 2022 May 19];14(1). Available from: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumenI.cgi?IDARTICULO=96237>
5. Dominguez N, Palomino S, Posadas L, Vallejos R. View of Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in nasal mucosa of medical students. *Rev Fac Med Hum* [Internet]. 2016 [cited 2022 May 19];16(1):20–3. Available from: <https://revistas.urp.edu.pe/index.php/RFMH/article/view/329/5990>
6. Cabrejos L, Inga J, Vives C. Frecuencia de infección por MRSA adquirida en la comunidad en pacientes hospitalizados en el Hospital Cayetano Heredia, Lima-Perú [Internet]. 2020. Available from: https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/7803/Frecuencia_CabrejosHirashima_Lucia.pdf?sequence=1&isAllowed=y

7. Villena J, Seminario J, Valderrama M. Variabilidad morfológica de la “tara” *Caesalpinia spinosa* (Molina.) Kuntze (Fabaceae), en poblaciones naturales de Cajamarca: descriptores de fruto y semilla. *Arnaldoa* [Internet]. 2019 [cited 2022 May 19];26(2):555–74. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2413-32992019000200003&lng=es&nrm=iso&tlng=es
8. Gnanamani A, Hariharan P, Paul- Satyaseela M. *Staphylococcus aureus*: Overview of Bacteriology, Clinical Diseases, Epidemiology, Antibiotic Resistance and Therapeutic Approach. *Frontiers in Staphylococcus aureus* [Internet]. 2017 Mar 8 [cited 2022 May 19]; Available from: <https://www.intechopen.com/chapters/54154>
9. Sato A, Yamagu T, Hamada M, Ono D, Sonoda S, Oshiro T, et al. Morphological and biological characteristics of *staphylococcus aureus* biofilm formed in the presence of plasma. *Microbial Drug Resistance* [Internet]. 2019 Jun 1 [cited 2022 May 19];25(5):668–76. Available from: <https://www.liebertpub.com/doi/full/10.1089/mdr.2019.0068>
10. Leon Mateo, Mancheno Myriam. Actividad antifúngica de compuestos fenólicos de tara (*Caesalpinia spinosa*) frente a *Fusarium graminearum*. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental* [Internet]. 2021;12(1):39–50. Available from: <http://portal.amelica.org/ameli/jatsRepo/130/1301941003/1301941003.pdf>
11. Bornaz Vanessa, Bornaz J. Efecto Antimicrobiano Del Extracto Etanólico De *Caesalpinia Espinosa* (Tara) Al 60 %; Sobre El *Enterococcus Faecalis*. *Odontología Activa Revista Científica* [Internet]. 2018;3(3):17–22. Available from: <http://portal.amelica.org/ameli/jatsRepo/130/1301941003/1301941003.pdf>
12. Haro A. Estudio in vitro de la eficacia antibacteriana entre el extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) al 100% e hipoclorito de sodio al 5,25% sobre el *Enterococcus faecalis* [Internet]. 2016. Available from: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/4082>
13. Delgado E, Tapia Y. EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Caesalpinia spinosa* (Tara) FRENTE A *Streptococcus mutans* [Internet]. 2021 [cited 2022 May 19]. Available from: <https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/447>

14. León Fátima, Sánchez Katherine. Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico del fruto de *Caesalpinia Spinosa* (Tara) en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 [Internet]. Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 2019. Available from: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/4082>
15. Cano D, Quispe B. Efecto inhibitorio in vitro de la infusión y aceite esencial de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre las cepas de *Streptococcus mutans* Puno-2017 [Internet]. Universidad Nacional del Altiplano. 2017. Available from: <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/5826>

ANEXOS

Anexo 1. Instrumento de recolección de datos

EFFECTO INHIBITORIO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA SEMILLA DE <i>Caesalpinia spinosa</i> (TARA) SOBRE <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.					
Número de placas	GRUPOS EXPERIMENTALES			GRUPOS CONTROL	
	100%	75%	50%	Control Negativo (etanol)	Control positivo Ciprofloxacino
Placa N°01	15,75	15,58	13,75	6,69	25,86
Placa N°02	15,76	14,65	13,01	6,60	25,76
Placa N°03	15,37	15,55	13,49	5,97	26,37
Placa N°04	14,96	15,18	13,08	5,94	25,06
Placa N°05	15,29	15,23	13,39	5,98	25,59
Placa N°06	15,56	14,70	13,88	6,36	25,41
Placa N°07	15,10	15,12	13,57	6,22	25,77
Placa N°08	15,15	15,25	14,09	6,39	26,11
Placa N°09	15,73	14,38	12,96	6,19	25,17
Placa N°10	15,51	15,26	13,52	5,96	26,42

Anexo 2. Matriz de consistencia

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis
Problema General	Objetivo General	Hipótesis General
¿Cuál será el efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de <i>Caesalpinia spinosa</i> (TARA) sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923?	demostrar el efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de la semilla de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	El extracto etanólico de la semilla de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) presenta efecto inhibitorio in vitro sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923
Problemas Específicos	Objetivos Específicos	Hipótesis Específicas
¿Cuáles serán los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las semillas de <i>Caesalpinia spinosa</i> "Tara"?	Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las semillas de <i>Caesalpinia spinosa</i> "Tara"	El extracto etanólico de las semillas de <i>Caesalpinia spinosa</i> "Tara" presenta metabolitos secundarios
¿Cuál será el efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de la semilla de <i>Caesalpinia spinosa</i> (TARA) al 100% sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923?	Determinar el efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de la semilla de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) al 100% sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	El extracto etanólico de la semilla de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) al 100% presenta efecto inhibitorio in vitro sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.
¿Cuál será el efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de la semilla de <i>Caesalpinia spinosa</i> (TARA) al 75% sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923?	Determinar el efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de la semilla de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) al 75% sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	El extracto etanólico de la semilla de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) al 75% presenta efecto inhibitorio in vitro sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.
¿Cuál será el efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de la semilla de <i>Caesalpinia spinosa</i> (TARA) al 50% sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923?	Determinar el efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de la semilla de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) al 50% sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	El extracto etanólico de la semilla de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) al 50% presenta efecto inhibitorio in vitro sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.
¿Cuál será el efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de la semilla de <i>Caesalpinia spinosa</i> (TARA) comparada con ciprofloxacino sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923?	Comparar el efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de la semilla de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) con Ciprofloxacino sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	El extracto etanólico de la semilla de <i>Caesalpinia spinosa</i> presenta mayor efecto inhibitorio in vitro sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 que la Ciprofloxacino.

Anexo 3. Operacionalización de las variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	Nº DE ÍTEMS	VALOR
Extracto etanólico de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara).	Sustancia pastosa que contiene los metabolitos secundarios de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara).	Maceración en etanol de 96° del pulverizado de las semillas de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) por un tiempo determinado.	Concentración	Porcentaje	Razón	3	100 75 50
Efecto inhibitorio in vitro sobre <i>Staphylococcus aureus</i> .	Disminución en el crecimiento bacteriano de <i>Staphylococcus aureus</i> .	Medida del diámetro del halo de inhibición.	Halo de inhibición	Diámetro	Razón	4	≤ 8mm (-) 8mm-14mm (+) > 14 mm-20mm (++) > 20mm : (+++)

Anexo 4. Certificado de identificación botánica

Hamilton W. Beltrán S.
Consultor Botánico
Calle Natalio Sánchez 251- Jesús María
hamiltonbeltran@yahoo.com

CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

El Biólogo colegiado, certifica que la planta conocida como "Tara" proporcionada por los Bachilleres, **IVETH OFELIA NAUCA GAMONAL** y **MIRIAM ELDA TORRES ZARATE**, Tesistas de la Universidad María Auxiliadora, ha sido estudiada científicamente y determinada como "*Caesalpinia spinosa*" y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

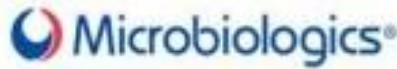
Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Orden: Fabales
Familia: Fabaceae
Género: *Caesalpinia*
Especie: *Caesalpinia spinosa*

Se expide la presente certificación a solicitud de los interesados para los fines que estime conveniente.

Lima, 01 de agosto del 2022


Bigo. Hamilton Beltrán
Hamilton Wilfredo Beltrán Santiago
Físlogo - Botánico
C.R. 2719

Anexo 5. Certificado de la cepa microbiológica



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<p>Specifications Microorganism Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus Catalog Number: 0360 Lot Number: 360-407** Reference Number: ATCC® 25923™* Purity: Pure Passage from Reference: 3</p>	<p>Expiration Date: 2023/8/31 Release Information: Quality Control Technologist: Keshia L. Negen Release Date: 2021/9/11</p>
Performance	
<p>Macroscopic Features: Medium to large, convex, entire edge, both white and pale white colonies, opaque, beta hemolytic Microscopic Features: Gram positive cocci occurring singly, in pairs and in irregular clusters</p>	<p>Medium: SBAP smooth, Method: Gram Stain (1)</p>
<p>ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.</p>	<p>Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): positive (1) Coagulase (rabbit plasma - tube): positive (1) Beta Lactamase (Cefinase Disk): negative (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 27 - 35 mm (1) Penicillin (10 units - Disk Susceptibility): 26 - 37 mm (1) Oxacillin (1 mcg - Disk Susceptibility): 18 - 24 mm</p> <div style="text-align: center; margin-top: 20px;">  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE </div>

**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



(†) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC Microbiologics, Inc. It is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.



TESTING CERT #2655.01

(†) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 - 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 - 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 - 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Interpretation
(A)	High consistency: The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	Low consistency: The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which the genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	No consistency: The requirements for high or low consistency are not met.

Sample Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus
 Sample Description: 0360
 Sample ID: 360-407
 Sample Creation Date/Time: 2018-09-05T12:23:16.417 MLB
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
E12 (+++)(A)	360-407	Staphylococcus aureus	2.34

Comments:

N/A

Anexo 6. Evidencias fotográficas del estudio

Figura 1. Recolección del fruto de la Tara



Figura 2. Lavado y desinfección de la muestra



Figura 3. Secado y selección de la tara



Figura 4. Extracción de las semillas de tara



Figura: 5. Secado en estufa de las semillas



Figura 6. Pulverizado y tamizado de las semillas de tara



Figura 7. Maceración de las semillas de Tara



Figura 8. Estudio fitoquímico



Figura 9. Preparación del extracto

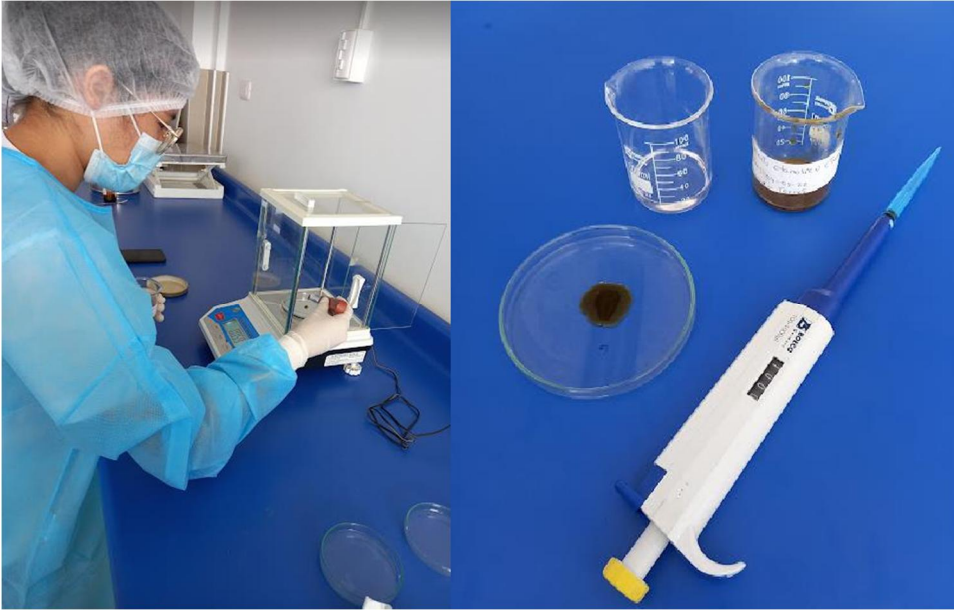


Figura 10. Reactivación de *Staphylococcus aureus*



Figura 11. Preparación del cultivo bacteriano



Figura 12. Preparación de los pozos y aplicación del extracto en placa



Figura: 13. Incubación de placas y lectura de halos de inhibición

